Ospedale Mauriziano "Umberto I„ Torino
Laboratorio di ricerche cliniche diretto dal Prof. P. BRUNO

Considerazioni intorno alla coagulazione del sangue

per il Dott. Mario Stanzani

Estratto da *Minerva Medica*
Anno IV - 1924

STABILIMENTO TIPOGRAFICO DELLA S. A. E.
TORINO - Via G. Pomba, 7

Ospedale Mauriziano "Umberto I" - Torino
Laboratorio di ricerche cliniche diretto dal Prof. P. BRUNO

Considerazioni intorno alla coagulazione del sangue

per il Dott. Mario Stanzani

Estratto da *Minerva Medica*
Anno IV - 1924

Stabilimento Tipografico della S. A. E.
TORINO - Via G. Pomba, 7

Nell'ultimo ventennio i lavori dei colloidochimici lasciarono intravvedere la possibilità di interpretare alla stregua di concezioni esclusivamente fisico-chimiche anche il processo della coagulazione del sangue. Questo nuovo indirizzo, a cui si ispirarono successivamente NOLF, HEKMA, HERZFELD e KLINGER, trova oggi larghi consensi. Così SCHADE dice che « la coagulazione offre l'esempio più evidente della maestria colloidofisica del corpo », mentre le recentissime ricerche di STUBER e di WÖHLISCH e dei loro collaboratori sembrano ormai prossime a svelare l'intima essenza del fenomeno.

Io credo che a ciò si perverrebbe più rapidamente se la stessa metodica usata da SÖRENSEN nello studio dell'albumina d'uovo, o quella usata da LOEB nello studio della gelatina fossero fedelmente e integralmente applicate allo studio di una « pura » (!) soluzione di fibrinogeno, e se comunque il ricercatore considerasse per così dire « ex novo » il problema attenendosi strettamente ai dati colloidochimici e prescindendo da gran parte di quanto è stato scritto in passato sul tema della coagulazione. Acquisita la esatta interpretazione del fenomeno « in toto », questa gioverebbe più tardi alla altrettanto esatta valutazione di quei dati di fatto che la vecchia letteratura possiede e che l'esperimento finora non ha smentito.

Il plasma sanguigno è una soluzione di elettroliti e di molecole non jonizzabili mantenute in reciproco, costante equilibrio. La più imponente

e forse l'unica *rottura* fisiologica di tale complesso equilibrio è data dalla coagulazione.

A questo proposito io mi permetto qui di dubitare dell'esattezza del concetto clinico di « *emoclasia o emocolloidoclasia* » e sopratutto del meccanismo patogenetico che da alcuni autori si è ad esse attribuito. Vere « clasie » degli equilibri interni del sangue, all'infuori della trombosi, non avvengono nell'organismo vivente. Si osservano solo, in clinica, particolari abnormi sindromi chimico-fisiche del sangue, o *crasi* nelle quali sono pur sempre riconoscibili: una isoionia, una isotonia, una isotermia e un rapporto costante fra i valori refrattometrici, viscosimetrici, oncometrici, stalagmometrici, stabilimetrici, ecc., del sangue. Una rottura di tali equilibri praticamente valutabile nel tempo e generalizzata a tutto l'ambiente umorale interno è incompatibile con la vita dell'organismo, il quale impone una latitudine di aberrazioni estremamente angusta mercè il repentino intervento dei meccanismi di regolazione intrinseci ed estrinseci al sangue. Chè, se realmente in determinate condizioni morbose, avvenisse, come opinano alcuni autori, la floculazione *nei vasi* di un qualche colloide, questo dovrebbe, a parer mio, essere il fibrinogeno come il più grossolanamente disperso, il meno stabile, il più incline alla floculazione di tutti i colloidi e particolarmente di tutte le globuline del plasma. Ma *floculazione del fibrinogeno* significa in ultima analisi *coagulazione del sangue,* poichè tutta l'essenza di quest'ultima sta precisamente nel cambiamento di dispersione di tale globulina e il prodotto di tale denaturazione è un gel irreversibile che noi chiamiamo *fibrina*. E allora in quale choc, cosidetto emoclasico, e in quale sezione dell'albero vasale durante detto choc il sangue circolante *coagula*?

La coagulazione deve quindi essere ritenuta l'unica espressione finora nota di una *colloidoclasia* del sangue.

Le indagini più recenti sui fattori capaci di trasformare il fibrinogeno in fibrina hanno finora lumeggiato soltanto alcuni aspetti del fenomeno senza coglierne l'intimo meccanismo. STUBER ha osservato che il fibrinogeno, messo a contatto con la trombina attraverso una membrana dia-

lizzatrice, coagula per degonfiamento (*entquellung*) delle proprie micelle, mentre la trombina stessa si rigonfia. WÖHLISCH ha osservato che il punto isoelettrico del fibrinogeno propriamente detto sta, secondo il tasso elettrolitico della soluzione, più o meno lontano nel territorio acido. (La determinazione elettrometrica ha dato, in una soluzione tampone di acetato 50/n con circa 0,25 % di NaCl, un esatto punto isoelettrico di Ph = 4,86), mentre una soluzione di fibrina raggiunge il proprio minimum di rigonfiamento (cioè il proprio punto i. e.) in una zona di Ph = 6,83 fino a circa Ph = 6,0. WÖHLISCH è quindi di opinione che, stando il punto i. e. del fibrinogeno poco lontano nell'acido e la zona isoelettrica della fibrina avendo il suo punto medio presso la reazione del sangue, la trombina agisca essenzialmente provocando uno spostamento del punto i. e. in tale direzione. SCHADE, che accenna soltanto al problema, pare voglia attribuire importanza sopratutto alle azioni di superficie, il cui giuoco può essere forse esclusivamente invocato nella spiegazione della trombosi.

Ora sembra ovvio che la turba di uno qualunque, e non di uno particolarmente, degli elementi della catena di equilibri chimico-fisici esistenti nel sangue debba provocare necessariamente, per la legge delle masse di GULDBERG e WAAGE, una turba di tutti gli altri elementi della catena stessa. Dobbiamo sempre ricordare la fissità meravigliosa delle tre grandi costanti chimico-fisiche dell'ambiente umorale, finora note: la *isoionia*, senza la quale nessuna conservazione dello stato colloidale del protoplasma sarebbe possibile: la *isotonia*, senza la quale nessun mantenimento di grandezza, forma, tasso d'acqua e di sali delle cellule sarebbe possibile; la *isotermia*, senza la quale nessuna indipendenza dell'organismo dalla temperatura atmosferica sarebbe possibile (SCHADE). Le alterazioni di una qualunque di queste grandi « K » induce necessariamente parallele alterazioni delle rimanenti. E' diuturna la cura che l'organismo ostenta nel contenere attraverso il ricambio e in connessione con questo le più varie turbe modificatrici. Così il mantenimento della normale dispersione colloidale del plasma è funzione almeno di que-

ste tre costanti, sopratutto della prima di esse. La isoionia infatti è indispensabile alla stabilità dei colloidi proteici del plasma allo stesso modo che questi, fungendo da « tamponi » in collaborazione dei carbonati, fosfati e di altri elettroliti deboli, sono necessari alla isoionia. E' quindi probabile che per lo meno la *più frequente* responsabile delle molteplici condizioni di floculazione del fibrinogeno sia una turba della isoionia. Il fibrinogeno, quale elettrolita anfotero, flocula allorquando il mezzo in cui è disciolto, raggiunge quella determinata *concentrazione di H-joni* (Ph) nella quale esso è elettricamente neutro. Quivi è il suo punto isoelettrico.

Al punto i. e. un colloide (globulina, caseina) raggiunge il suo minimum di *jonizzazione*, il minimum di *conducibilità elettrica*, essendo questa funzione del numero di joni. Analogamente la carica elettrica delle micelle di fibrinogeno è funzione del valore di Ph. Per un certo valore di Ph, che è precisamente il punto i. e. del fibrinogeno, la carica è minima; spostandosi il Ph verso l'acidità la carica diventa positiva, verso la alcalinità essa diventa negativa. Il fibrinogeno jonizzato ha quindi una dispersione più completa del fibrinogeno isoelettrico, insolubile. Più la dispersione è completa e più il fibrinogeno si avvicina allo stato di soluzione vera; meno essa è forte e più il fibrinogeno si avvicina allo stato molecolare, cioè è prossimo alla floculazione.

La *tensione superficiale* delle micelle di fibrinogeno diminuisce allorquando aumenta la carica elettrica di esse, positiva o negativa, e viceversa (BURTON). Essa raggiunge dunque un massimo nel momento in cui la carica è nulla, cioè al punto i. e. In altre parole: più la tensione superficiale è elevata e più la tendenza alla floculazione è forte. Questo dimostra che la tensione superficiale è pure condizionata dal Ph. Spostandosi infatti il Ph verso l'acidità e l'alcalinità, la tensione superficiale diminuisce.

Ma la tensione superficiale è inversamente proporzionale alla *viscosità* e quindi anche al *rigonfiamento* delle micelle di fibrinogeno. Diminuendo la tensione superficiale, la viscosità e il rigonfiamento aumentano. E viceversa: diminuendo l'attrito fra le micelle (viscosità), e quindi

la pressione oncotica di esse (rigonfiamento), aumenta la tensione superficiale delle stesse.

Ma viscosità e rigonfiamento sono funzione del grado di jonizzazione del fibrinogeno. Tutti gli joni possiedono in alto grado il potere di fissare acqua (EULER), per conseguenza tutte le cause capaci di far procedere la jonizzazione del fibrinogeno conferiranno a questo una maggior tendenza a fissar acqua, a rigonfiarsi. L'allontanamento del Ph dal punto i. e. del fibrinogeno verso i due territori laterali è una delle cause suddette. Ne segue che quanto più lungi dal loro punto i. e. stanno le micelle di fibrinogeno, tanto più esse sono rigonfie (la diminuzione dello spazio intermicellare ove circola l'acqua producendo, per la legge di EINSTEIN, un aumento dell'attrito interno, cioè una iperviscosità della soluzione) e viceversa. Così, al proprio punto isoelettrico, le micelle di fibrinogeno raggiungono il minimum di rigonfiamento, il massimo di degonfiamento e la soluzione raggiunge ivi la viscosità minima.

A questo punto è utile, a parer mio, distinguere due fasi successive nella coagulazione del fibrinogeno: una prima fase in cui le micelle isoelettriche floculano; una seconda in cui, per l'aumento ulteriore della tensione superficiale, esse si agglutinano. Nella prima fase, essendo il colloide allo stato di particelle separate, è ancora possibile valutare praticamente il loro degonfiamento e parallelamente la diminuzione graduale della viscosità della soluzione. Così pure è possibile valutare la *pressione osmotica* della soluzione che, per la estrema retrocessione della jonizzazione, raggiunge quivi (punto i. e.) il suo minimum. Nella seconda fase invece tali determinazioni sono impedite dalla formazione dei fili di fibrina, costituenti con la loro trabeatura una sostanza a struttura alveolare a cellule chiuse. Il plasma a questo punto non è più fluido; non può più defluire a goccia a goccia ed è rappreso in una massa gelatinosa, rigonfia, che noi chiamiamo *coagulo*. In questa fase il minimum di viscosità si traduce in un massimo di indurimento, vale a dire in un massimo di degonfiamento della fibrina. Ciascuna di tali cellule incluse nel gel può così essere paragonata ad un

sacco di collodion chiuso da ogni parte. L'analogia è tanto più grande in quantochè le pareti di esse fungono da vere membrane dializzatrici, fra le quali è residuata allo stato di fine dispersione una certa quantità di siero. La pressione osmotica esercitata da questo idrosol interno (siero) è equilibrata dalla tensione elastica delle pareti delle cellule stesse. In altre parole : le molecole non dializzabili di questo idrosol interno (e gli joni fissati elettrostaticamente su di esse) esercitano sulle pareti interne di tali cellule una determinata pressione osmotica. Dell'acqua viene allora attirata nelle cellule le quali si inturgidiscono fino a che non si oppone la elasticità della trabeatura di fibrina, cioè fino all'equilibrio delle due forze. In ciò consiste il fenomeno della turgescenza della fibrina.

Riassumendo : le micelle di fibrinogeno giunte in prossimità del loro punto isoelettrico hanno una minima carica positiva, cioè sono quasi deionizzate; hanno un'alta tensione superficiale e un piccolissimo grado di idratazione. La soluzione colloidale, in cui esse si trovano ancora disperse, presenta quindi un minimum di viscosità e una minima pressione osmotica. In tali condizioni la stabilità di tali micelle è minima e perciò esse floculano (1ª fase).

Raggiunto il punto isoelettrico, per la progredita intensità dei suddetti fenomeni, specie della tensione superficiale, le micelle si agglutinano (2ª fase), formando un gel vacuolato, le cui trabecole si fanno sempre più compatte, disidratate (retrazione della fibrina) e controbilanciano la pressione osmotica esercitata dal siero rimasto captivo nelle lacune intertrabeali.

Tutti i suddetti momenti chimico-fisici sono mutuamente concatenati e condizionati tutti quanti dal fattore elettrochimico, cioè dalla jonizzazione più o meno progredita del fibrinogeno, il quale fattore costituisce per così dire la chiave di volta di tutto il sistema.

Torino, marzo 1924.